УДК 595.429.2:591.132

И. А. Акимов, В. В. Барабанова

ВЛИЯНИЕ НЕКОТОРЫХ КОМПОНЕНТОВ РАСТИТЕЛЬНОГО СОКА НА АКТИВНОСТЬ ПИЩЕВАРИТЕЛЬНЫХ ФЕРМЕНТОВ КЛЕЩЕЙ *TETRANYCHUS CINNABARINUS* BOISD.

Успешное питание клещей вредных видов на тех или иных кормовых растениях связано не только с наличием у них соответствующих пищеварительных ферментов, но и с присутствием в соке растений компонентов, которые могут либо тормозить, либо активировать гидролитическое расщепление пищевых субстратов. Установлено, например, что амилазу средней кишки *Tenebrio molitor* L. (Applebaum et al., 1961), амилазу крови и слюны *Bombyx mori* L. (Ito et al., 1962; Matsumura, 1930) активируют ионы хлора. Амилазу слюны и кишечника растительноядного клопа *Lygus disponsi* L. активируют некоторые аминокислоты, органические и неорганические соли, а также вытяжки из кормового растения (Hori, 1973). Протеазы некоторых фитонематод активируются вытяжками из частей растений, на которых они питаются (Мюге, 1965).

Задачей настоящего исследования было изучение влияния растворов различных концентраций хлористого натрия, азотнокислого калия, глутамина и сока из листьев кормового растения на активность некоторых пищеварительных ферментов клещей *Tetranychus cinnabarinus*.

Материал и методы

Материалом служили клещи из лабораторной культуры, питавшиеся на листьях фасоли. В экспериментах использовали самок, которые перед опытом в течение двух суток не питались.

Изучали влияние растворов NaCl, KNO_3 и глутамина в концентрациях от 10^{-5} до 10^{-1} молей на активность амилазы клещей, влияние различных значений pH на степень активации исследуемыми веществами амилазы, инвертазы и протеазы при различных сочетаниях концентраций этих веществ, а также действие сока из листьев фасоли, разведенного в 2; 5; 10; 100; 1000 раз. Ферментными препаратами служили гомогенаты целых клещей.

При определении активности амилазы и инвертазы брали по 25, а при определении протеолитической активности по 150 самок клещей на каждые 100 мкл.

Реакционная смесь состояла из 20 мкл забуференного субстрата, 20 мкл гомогената и 10 мкл исследуемого активатора. В контроль добавляли вместо активатора 10 мкл воды; вторым контролем служил инактивированный гомогенат, к которому добавляли 10 мкл испытуемого вещества. Активность амилазы и инвертазы определяли по методу Нельсона, а протеолитическую активность — по методу Мура и Штейна в ультрамикровариантах (Собецкий, 1967). Для исследования действия сока фасоли срезанные листья обрабатывались по Хори (Hori, 1969). Опыты проводились в 3—10 повторностях. Результаты обрабатывались статистически (Рокицкий, 1961; Урбах, 1963).

Результаты и их обсуждение

Установлено, что амилазу клещей в наибольшей степени активирует глутамин (табл. 1). Активирующее действие растворов KNO_3 и глутамина начинает проявляться при концентрации 10^{-4} молей ($p<0{,}01$). С увеличением концентрации эффект активации возрастает, а концентрации 10^{-1} молей KNO_3 и 10^{-2} молей глутамина являются оптимальными. Хлористый натрий активировал амилазу клещей лишь при концентрации 10^{-2} молей (табл. 1).

Таблица 1

Активность амилазы клещей при различных концентрациях KNO_3, NaCl и глутамина

Испытуемое вещество	n	Контроль	Концентрация, моль				
			10^{-5}	10^{-4}	10^{-3}	10^{-2}	10^{-1}
KNO_3	5	12,4±0,58	12,2±0,9	15,2±0,83	16,4±0,81	15,4±0,5	18,7±1,3
NaCl	6	9,4±1,6	10,4±1,9	11,8±2,1	10,2±1,8	12,8±1,8	12,1±1,5
Глутамин	5	15,7±1,8	20,2±1,7	21,1±1,2	23,0±1,5	26,2±1,2	—

Примечание: В табл. 1—5 активность фермента выражена в мкг продуктов реакции на 100 мкг белка препарата.

Влияние кислотности среды на степень активации исследуемыми веществами пищеварительных ферментов изучалось при оптимумах действия последних (pH 5,5; 4,0) (Барабанова, 1972), при pH 6,5, близком к кислотности сока фасоли, а для амилазы также при pH 4,0 и 7,0 (границы проявления активности фермента). Из табл. 2 видно, что в кислой

Таблица 2

Амилолитическая активность клещей при различных pH под влиянием KNO_3, NaCl и глутамина

pH	n	Контроль	KNO_3	NaCl	Глутамин
4,0	4	5,0±0,52	4,0±0,82	8,0±0,15	3,6±0,9
5,5	5	12,0±2,8	18,5±1,8	19,0±0,54	24,5±2,6
6,5	4	0	13,8±0,63	16,7±0,65	17,8±0,56
7,0	4	3,6±1,5	3,5±0,43	3,3±0,72	4,7±0,42

среде амилаза не активируется ни одним из веществ (pH 4,0), а в нейтральной — слабо активируется лишь глутамином (pH 7,0). В зоне оптимума действия амилаза активируется всеми веществами и в наибольшей степени — глутамином. При pH 6,5 у голодных клещей не удается обнаружить амилолитической активности, а при добавлении испытуемых веществ активность фермента резко возрастает. В зоне оптимума действия инвертаза слабо активируется всеми веществами, а при pH 6,5 значительно активирует инвертазу лишь азотнокислый калий ($p<0{,}01$). Хлористый натрий и глутамин не вызывают достоверной активации (табл. 3). Протеазы активируются только глутамином при обоих значениях pH как у голодных, так и у сытых клещей (табл. 4).

Нами испытывались также смеси активирующих веществ в 4 комбинациях концентраций (табл. 5). При выборе концентраций компонентов смеси принимались во внимание данные Хори (Hori, 1969) о том,

Таблица 3

Активность инвертазы клещей под влиянием KNO_3, NaCl и глутамина при различных pH (n=4)

pH	Контроль	KNO_3	NaCl	Глутамин
5,5	17,8±0,95	19,9±1,4	20,3±0,4	21,7±0,95
6,5	2,0±0,67	8,3±1,8	3,0±0,01	3,7±0,24

Таблица 4

Протеолитическая активность клещей под влиянием KNO_3, NaCl и глутамина при различных pH (n=4)

Состояние клещей	pH	Контроль	KNO_3	NaCl	Глутамин
Непитавшиеся	4,0	0	0	0	2,6±0,41
»	6,5	1,2±0,01	1,5±0,03	1,4±0,02	3,9±0,17
Питавшиеся	4,0	5,8±0,15	—	—	8,5±0,08

Таблица 5

Амилолитическая активность клещей под влиянием смесей KNO_3, NaCl и глутамина в различных концентрациях (pH 5,5; n=4)

Смесь	Соотношение компонентов, моль	Контроль	Опыт
№ 1	KNO_3 10^{-1}+ NaCl 10^{-2} + глутамин 10^{-2}	10,96±0,48	13,0±0,66
№ 2	KNO_3 10^{-1}+ NaCl 10^{-2} + глутамин 10^{-3}	11,2±0,42	13,0±0,62
№ 3	KNO_3 10^{-3}+ NaCl 10^{-3} + глутамин 10^{-4}	8,3±0,89	12,8±0,49
№ 4	KNO_3 10^{-4}+ NaCl 10^{-4} +глутамин 10^{-4}	14,0±0,60	18,8±0,88

что эффект активации больше в том случае, когда компоненты смеси имеют концентрацию ниже оптимальной для индивидуального действия каждого из активаторов.

Как видно из табл. 5, максимальный активирующий эффект при pH 5,5 вызывают смеси № 3 и № 4 ($p<0,01$), а при действии смесей № 1 и № 2 различия между контролем и опытом были статистически недостоверны ($p>0,1$). При pH 6,5 амилаза не активировалась смесями № 3 и № 4. Инвертаза и протеазы также не активировались этими смесями.

Таблица 6

Активность пищеварительных ферментов клещей под влиянием вытяжки из листьев фасоли

Фермент	pH	Контроль		Разведение							
				5		10		100		1000	
		n	M±m	n	M±m	n	M±m	n	M±m	n	M±m
Амилаза	5,5	10	48,9±5,7	4	30,0±1,02	11	51,5±7,5	12	47,0±1,5	3	30,0±0,1
	6,5	3	28,0±1,02		—	5	45,0±7,5	3	34,0±1,2		—
Инвертаза	5,5	5	27,5±4,5	3	35,0±0,1	3	20,0±0,2	5	26,0±0,65	3	22,0±0,5
Протеазы	4,0	5	4,98±0,76		—	5	4,0±1,2	5	3,0±0,3		—

Примечание: активность ферментов выражена в мкг продуктов реакции в пересчете на 100 клещей за время инкубации.

Вытяжки из листьев фасоли в 10- и 100-кратном разведении слабо активировали амилазу клещей при pH 6,5 (табл. 6). При pH 5,5 различия оказались статистически недостоверными ($p>0,05$). Инвертаза слабо активируется вытяжкой из листьев фасоли только при 5-кратном разведении. Протеазы не активизовались вытяжкой ни при 10-, ни при 100-кратном разведении (меньшие разведения давали в контроле высокую экстинцию, затруднявшую измерения).

Таким образом, исследования, проведенные на *T. cinnabarinus* показали, что сок из листьев фасоли, растворы азотнокислого калия, хлористого натрия и глутамина при определенных условиях и в определенных концентрациях вызывают активацию некоторых пищеварительных ферментов клеща. Причем глутамин активирует ферменты почти при всех условиях. Однако в целом наблюдается значительно меньший эффект активации, чем у клопа *L. disponsi* L. (Hori, 1969).

Амилаза и протеазы, секреция которых у голодных клещей резко снижается, активируются глутамином в наибольшей степени. Роль активаторов, особенно глутамина, состоит не только в том, что они повышают активность ферментов, но и расширяют, особенно у голодных клещей, область активности некоторых ферментов при pH, отличных от оптимальных.

Активация амилазы слюны ионами хлора общеизвестна. Причина же активирующего эффекта глутамина не выяснена. Хори (Hori, 1969) предполагает, что степень активации глутамином и некоторыми близкими к нему соединениями зависит от длины углеродной цепочки и относительной степени ионизации концевых групп.

Клещи *T. cinnabarinus* — полифаги. Способность их питаться на листьях многих кормовых растений, возможно, обусловлена активирующим влиянием на пищеварительные ферменты ионов хлора, и особенно глутамина. Вероятно, при pH, отличных от области оптимума действия ферментов, эти вещества способствуют увеличению их активности, и поэтому клещи могут питаться растениями, кислотность сока которых отличается от оптимумов действия их пищеварительных ферментов. Следовательно, существование активаторов пищеварительных ферментов у клещей может способствовать расширению их трофических возможностей.

Хори (Hori, 1969) обнаружил, что у различных видов клопов испытуемые вещества активируют амилазу в различной степени. На этом основании он даже предполагает возможность классификации близких таксонов насекомых. Не исключено, что такие различия имеют место и у клещей, трофика которых весьма разнообразна.

Смеси многокомпонентных активаторов в различных сочетаниях их концентраций производят неодинаковый активирующий эффект на пищеварительные ферменты клеща *T. cinnabarinus*. Возможно, что разные ферменты клеща активируются при различном сочетании этих веществ. В таком случае наличие в растительном соке оптимального их сочетания улучшает условия питания вредителя.

Количество указанных веществ-активаторов в листьях растений в значительной мере зависит от особенностей растений и условий их произрастания. Можно предположить, что определенное стимулирующее влияние на вспышку массового размножения вредных видов тетранихид оказывает увеличение количества активаторов ферментов клещей в листьях растений (глутамина, нитратов) при внесении излишнего количества азотных удобрений. При определенных условиях агротехники может измениться химизм кормового растения, который будет способствовать не только обогащению пищи питательными веществами, но и лучшему

их усвоению (Благовещенский и др., 1931; Rodriquez, 1951, 1954, 1958; Соколова, 1966; Rodriquez et al., 1970, 1971 и др.). Вероятно, не только пищевой ценностью глутамина, но и способностью его активировать пищеварительные ферменты клещей в какой-то степени можно объяснить наблюдавшееся Фрицше (Fritzsche, 1960) увеличение плодовитости обыкновенного паутинного клеща при возрастании содержания глутамина в пище.

ЛИТЕРАТУРА

Барабанова В. В. О некоторых пищеварительных ферментах паутинного клеща — Tetranychus cinnabarinus Boisduval. — Вестн. зоол., 1972, № 6, с. 89.

Благовещенский А. В., Боголюбова В. А., Соседов Н. И. К физиологии хлопчатника, пораженного паутинным клещиком.— НИХИ, Ташкент, 1931, вып. 23, с. 3.

Мюге С. Г. О физиологической специфичности фитогельминтов.— Труды гельминтолог. лаб., т. 14, «Проблемы биологии и экологии гельминтов растений», 1965, с. 81.

Рокицкий П. Ф. Основы вариационной статистики для биологов.— Минск, Изд-во Белгосуниверситета им. В. И. Ленина, 1961, с. 207.

Собецкий Л. А. Некоторые особенности физиологии питания тлей.— Автореф. канд. дис. Кишинев, 1967, с. 7.

Соколова Н. А. Влияние минерального питания растений фасоли на развитие обыкновенного паутинного клеща Tetranychus urticae Koch.— Тез. I акарол. совещания, М., «Наука», 1966, с. 196.

Урбах В. Ю. Математическая статистика для биологов и медиков.— М., Изд-во АН СССР, 1963, с. 201.

Applebaum S. W., Jankovič M., Birk Y. Studies on the midgut amylase activity of Tenebrio molitor L. larvae.— J. Insect Physiol., 1961, **7**, N 2, p. 100.

Hori K. Some properties of salivary amylases of Adelphocoris suturalis (Miridae), Dolycoris baccarum (Pentatomidae) and several other heteropteran species.— Entomol. Exptl. et Appi., 1969a, **12**, N 4, p. 454.

Hori K. Effects of various activators on the amylase of the bug Lygus disponsi Linn.— J. Insect Physiol. 1969b, **15**, N 12, p. 2305.

Hori K. Studies on Enzymes, Especialy Amylases, in the digestive System of the Bug Lygus disponsi and Starch Digestion in the System.— Rep. Res. Bull. Obihiro Zool. Univ. Ser. 1, 1973, v. 8, N 2, p. 173.

Ito T., Mukajama F., Tanaka M. Some properties of amylases of digestive juice and blood of larvae of the silk-worm, Bombyx mori L.— J. seric. Sci. Japan, 1962, **31** (from Hori, 1973), p. 82.

Matsumura S. Action of the salivary amylase in the silkworm, Bombyx mori.— Sanchigaku Mag., 1930, **2**, (from Hori, 1973), p. 82.

Rodriquez J. G. Mineral nutrition of the two-spotted spider mite Tetranychus bimaculatus Harvey.— Ann. Entomol. Soc. Amer. 1951, **44**, N 5, p. 511.

Rodriquez J. G. Radiophosphorus in metabolism studies in the two spotted spider mite.— J. Econ. Entom., 1954, **47**, N 4, p. 514.

Rodriquez J. G. The comparative NPK nutrition of Panonychus ulmi and Tetranychus telarius an Apple trees.— J. Econ. Entomol., 1958, **51**, N 3, p. 369.

Rodriquez J. G., Chaplin C. F., Stoltz L. P., Lasheen A. M. Studies on resistence of strawberries to mites. 1. Effect of plant nitrogen.— J. Econ. Entomol., 1970, **63**, N 6, p. 1855.

Rodriquez J. G., Dabrowski Z., Stoltz L. P., Chaplin C. F. Studies on resistence of strawberries to mites. 2. Preference and nonpreference responses of Tetranychus urticae and T. turkestani to water soluble extracts of foliage.— J. Econ. Entomol., 1971, **64**, N 2, p. 383.

Fritzsche R. Morphologishe, biologische und physiologische variabilitat und ihre Bedeutung für die epidemiologie und bekampfung von Tetranychus urticae Koch.— Biol. zbl., 1960, N 5, s. 521.

Институт зоологии
АН УССР

Поступила в редакцию
17.II 1975 г.

I. A. Akimov, V. V. Barabanova

EFFECT OF SOME COMPONENTS OF VEGETATIVE JUICE ON THE ACTIVITY OF DIGESTIVE ENZYMES IN *TETRANYCHUS CINNABARINUS* BOISDUVAL

Summary

It is determined that ions of chlorine, NO_3, glutamine and bean leaves extracts activate digestive enzymes of *T. cinnabarinus* Boisduval. Glutamine is most effective for the activation. The substances under test not only activate enzymes of *T. cinnabarinus* but also expand the range of action for some of them.

Institute of Zoology,
Academy of Sciences, Ukrainian SSR

УДК 595.182(477.41)

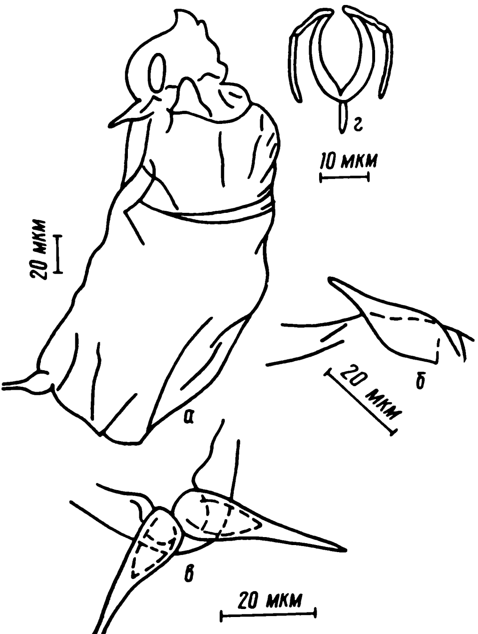
Э. Н. Овандер

МАТЕРИАЛЫ К РАСПРОСТРАНЕНИЮ КОЛОВРАТКИ *PARADICRANOPHORUS ACULEATUS* (NEISWESTNOWA-SHADINA) (ROTATORIA)

Вид *Paradicranophorus aculeatus* описан Неизвестновой-Жадиной (1935) из реки Оки в окрестностях г. Мурома. По-видимому, коловратка оказалась весьма редкой, так как несмотря на фундаментальные исследования пресноводной фауны Европы и Советского Союза, она найдена лишь в Польше (Wiszniewski, 1954; Pawlowski 1958). На территории Украины этот вид до настоящего времени не зарегистрирован.

В июле 1976 г. нам удалось обнаружить представителя этого вида в основном русле р Тетерев в окрестностях г. Иванкова Киевской обл. Ввиду редкости его считаем необходимым представить морфологические сведения об обнаруженных экземплярах, что внесет определенный вклад в познание внутривидовой изменчивости вида и уточнит вопросы его диагностирования.

Длина тела — 214 мкм (рисунок), длина кутикулярных выростов — 22, мастакса — 29, пальцев ноги — 35 мкм, что несколько меньше длины, указанной Л. А. Кутиковой (1970). По ее данным, эта коловратка встречается в заиленных местах и ведет придонный малоподвижный образ жизни. Нами найдена на мелководье у берега возле топляка на глубине 0,5 м.



Paradicranophorus aculeatus (ориг.):
а — общий вид, латерально, *б* — кутикулярный вырост головного отдела, латерально, *в* — пальцы ноги, вентрально, *г* — челюстной аппарат.

Институт зоологии
АН УССР

Поступила в редакцию
5.V 1977 г.